·论著·

肿瘤出芽及肿瘤浸润淋巴细胞对食管鳞状细胞癌淋巴结转移的预测价值研究

张继方[1]，陈芳[1]，唐佳雯[1]，李红亮[2*]

【摘要】 **背景** 食管癌淋巴结转移状态影响患者的手术方案和预后情况，需要寻找能够预测食管癌淋巴结转移的危险因素协助临床诊疗。**目的** 探讨肿瘤出芽（tumor budding，TB）、肿瘤浸润淋巴细胞（tumor-infiltrating lymphocytes，TILs）预测食管鳞状细胞癌患者淋巴结转移的价值。**方法** 选择2013年1月—2022年3月于宁波大学附属人民医院行食管癌根治切除并留存石蜡标本的124例食管鳞状细胞癌患者为研究对象，采用光镜和CK5/6免疫组织化学染色评估患者癌组织中TB数量及TILs密度，采用多因素Logistic回归分析探究食管鳞状细胞癌患者淋巴结转移的影响因素，并采用受试者工作特征（ROC）曲线探讨TB和TILs对食管鳞状细胞癌患者淋巴结转移的预测价值。**结果** 多因素Logistic回归分析结果显示TB（OR=20.078，P<0.001）、TILs（OR=0.218，P=0.008）、脉管内癌栓（OR=28.609，P<0.001）是食管鳞状细胞癌患者淋巴结转移的影响因素。TB预测食管鳞状细胞癌患者淋巴结转移的ROC曲线下面积（AUC）为0.835〔95%CI（0.763，0.907）〕，TILs预测食管鳞状细胞癌患者淋巴结转移的AUC为0.656〔95%CI（0.558，0.753）〕。**结论** TB、TILs为食管鳞状细胞癌患者淋巴结转移的影响因素，TB级别与TILs密度对预测食管鳞状细胞癌患者淋巴结转移有较好的诊断效能。

【关键词】 食管鳞癌；肿瘤出芽；肿瘤浸润淋巴细胞；淋巴转移；食管肿瘤；Logistic模型；预测

【中图分类号】 R 730.269 【文献标识码】 A DOI：10.12114/j.issn.1007-9572.2023.0112

【引用本文】 张继方，陈芳，唐佳雯，等.肿瘤出芽及肿瘤浸润淋巴细胞对食管鳞状细胞癌淋巴结转移的预测价值研究［J］.中国全科医学，2023.［Epub ahead of print］.DOI：10.12114/j.issn.1007-9572.2023.0112.［www.chinagp.net］

ZHANG J F，CHEN F，TANG J W，et al. Predictive value of tumor budding and tumor-infiltrating lymphocytes on lymph node metastasis of esophageal squamous cell carcinoma［J］. Chinese General Practice，2023.［Epub ahead of print］.

Predictive Value of Tumor Budding and Tumor-infiltrating Lymphocytes on Lymph Node Metastasis of Esophageal Squamous Cell Carcinoma

ZHANG Jifang[1]，*CHEN Fang*[1]，*TANG Jiawen*[1]，*LI Hongliang*[2*]

1.Department of Pathology，the Affiliated People's Hospital of Ningbo University，Ningbo 315040，China

2.Department of Gastroenterology，the Affiliated People's Hospital of Ningbo University，Ningbo 315040，China

[*]Corresponding author：LI Hongliang，Chief Physician；E-mail：1047658454@qq.com

【Abstract】 **Background** The surgical protocols and prognosis of esophageal squamous cell carcinoma（ESCC）patients influenced by the status of lymph node metastasis. It is necessary to identify risk factors that can predict lymph node metastasis to assist in clinical treatment. **Objective** To investigate the predict value of tumor budding（TB）and tumor-infiltrating lymphocytes（TILs）on lymph node metastasis（LNM）in patients with ESCC. **Methods** A total of 124 patients with ESCC who underwent radical resection and retained paraffin-embedded specimens in the Affiliated People's Hospital of Ningbo University from January 2013 to March 2022 were selected as the research subjects. The light microscopy and CK5/6 immunohistochemical staining were used to evaluate the amount of TB and density of TILs. Multivariate Logistic regression analysis was used to explore the influencing factors of lymph node metastasis in patients with ESCC and the receiver operating characteristic（ROC）curve was plotted to investigate the predictive value of TB and TILs for lymph node metastasis in patients with ESCC. **Results** Multivariate Logistic regression analysis showed that TB（OR=20.078，P<0.001），TILs（OR=0.218，P=0.008），and intravascular tumor thrombus（OR=28.609，P<0.001）were influencing factors for lymph node metastasis. The area under ROC curve（AUC）for TB and TILs to predict lymph node metastasis in patients with ESCC was 0.835〔95%CI（0.763，0.907）〕

基金项目：浙江省卫生健康科技计划（编号2022KY1182）

1.315040 浙江省宁波市，宁波大学附属人民医院病理科 2.315040 浙江省宁波市，宁波大学附属人民医院消化内科

[*]通信作者：李红亮，主任医师；E-mail：1047658454@qq.com

本文数字出版日期：2023-05-04

and 0.656〔95%*CI*(0.558，0.753)〕，respectively. **Conclusions** High-grade TB and low-density TILs were influencing factors for lymph node metastasis，TB grade and density of TILs has good diagnostic efficacy in predicting lymph node metastasis in patients with ESCC.

【**Key words**】 Esophageal squamous cell carcinoma；Tumor budding；Tumor-infiltrating lymphocytes；Lymph metastasis；Esophageal neoplasms；Logistic models；Forecasting

食管癌是威胁人类健康的主要恶性肿瘤之一，中国为食管癌高发国家，发病和死亡人数分别占全球的53.7%和55.3%[1-2]。淋巴结转移状态和转移的数量直接决定食管癌N分期以及患者进一步的治疗方案，是影响预后的关键因素[3-4]。然而食管黏膜下淋巴管网丰富，引流通路复杂广泛，涉及颈、胸、腹部等20余组淋巴结[5]，当早期肿瘤突破黏膜固有层时即可发生淋巴结转移，具有区域性、双向性、连续性、跳跃性等特点[6]。因此，明确食管癌淋巴结转移的危险因素，寻找能够预测淋巴结转移的方法，对患者手术治疗方式的选择、淋巴结清扫范围、术后辅助治疗及预后评估等均有重要价值，尤其对术后淋巴结清扫数目不足无法精确评估N分期的食管癌病例具有参考意义。

按照组织学类型，我国以食管鳞状细胞癌(Esophageal squamous cell carcinoma，ESCC)较为常见，而西方国家以食管腺癌多见[7]。虽然现今分子病理学与免疫治疗发展迅速，但肿瘤组织形态学仍是病理诊断的重要基石。肿瘤出芽（tumor budding，TB）是可在多种恶性肿瘤中观察到的病理组织形态学现象，反映了肿瘤具有较强的侵袭或转移能力，多项研究已验证其预后价值[8-10]，并提示与早期的结直肠癌、食管癌及胃癌等发生淋巴结转移具有相关性[11-13]。肿瘤浸润淋巴细胞（tumor-infiltrating lymphocytes，TILs）是存在于肿瘤免疫微环境中具有抗肿瘤作用的淋巴细胞群，发挥免疫应答作用[14]。有证据支持TILs可用于预测恶性肿瘤患者免疫治疗的疗效并提示预后[15-17]，有研究提示其在早期胃癌中是淋巴结转移的预测因子[18]。本研究主要分析TB和TILs与ESCC临床病理特征的相关性，并评估两者对食管癌淋巴结转移的预测价值，旨在病理组织形态学方面寻找提示临床治疗的依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象 2013年1月—2022年3月于宁波大学附属人民医院行食管癌根治切除并留存石蜡标本的124例患者为研究对象。患者年龄46~82岁，中位年龄62岁。纳入标准：（1）病理诊断证实为ESCC；（2）有完整的临床病理资料，包括患者性别、年龄、肿瘤长径、肿瘤分化程度、肿瘤浸润层次、有无淋巴结转移、有无脉管内癌栓；（3）术前均未行新辅助治疗。排除标准：（1）同时患有其他部位原发肿瘤的患者；（2）既往因其他疾病接受胸或腹部大手术的患者。本研究已通过宁波大学附属人民医院伦理委员会批准，伦理审批号为（2021）年伦理审查（科研）第（055）号。

1.2 免疫组化染色 制备切片，厚度约4 μm，二甲苯脱腊，梯度酒精乙醇（100%、95%、75%）水化，高压锅高温抗原修复5 min（pH 6.0柠檬酸盐修复液），运用全自动免疫组织化学染色仪（德国LEICA，LEICA BOND MAX）染色，具体步骤按照仪器操作说明书执行。

1.3 判读TB TB是在显微镜下观察到的上皮–间充质转化（EMT）的病理形态学表现[19]，目前食管癌中TB尚无规范化的评估方法，本研究参考2016国际TB共识会议（International Tumor Budding Consensus Conference，ITBCC）推荐的结直肠癌TB评估方法[20]，选择TB最密集的区域，即“热点区”计数（×20视野，即0.785 mm^2区域），计数显微镜下所见的肿瘤浸润前沿间质内散在的呈未分化形态的肿瘤细胞群，细胞群为单个肿瘤细胞或<5个细胞的肿瘤细胞簇。根据标准将其分为低、中、高级别，出芽数分别为0~4、5~9、≥10个。本研究通过细胞角蛋白5/6（CK5/6）免疫组化染色判读TB个数，依据上述推荐的TB评估方法，124例苏木青–伊红染色（Hematoxylin-eosin，HE）切片及CK5/6染色的TB由两名病理医师阅片综合评估并讨论确定TB分级[13]。本研究将TB分级中的低级别和中级别合并为低–中级别TB，与高级别TB行进一步的对比分析。

1.4 判读TILs 本研究采用2014年国际肿瘤浸润淋巴细胞工作组（International TILs Working Group）推荐的乳腺癌中TILs的评估标准[21]进行食管癌TILs形态学评估，TILs为单核淋巴细胞总面积占肿瘤间质总面积的百分比，并在侵袭性肿瘤的边界内全面评估肿瘤区域的平均TILs，而不能仅关注热点区域，一般四舍五入到最接近的5%或10%。本研究由两名病理医师共同阅片评估HE切片中的TILs，TILs<30%分为低密度TILs，TILs≥30%为高密度TILs[22]。

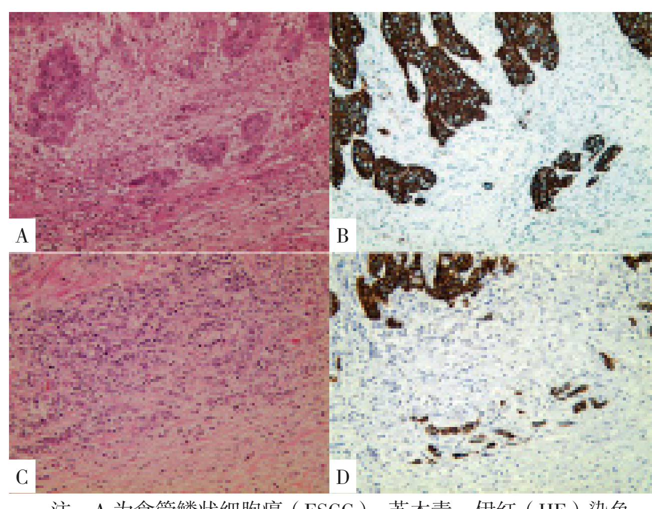
1.5 分期 本研究参照美国癌症联合会与国际抗癌联盟联合发布的第八版食管癌分期系统[23]，对食管癌患者进行病理TNM（pTNM）分期。

1.6 统计学方法 所有数据资料应用SPSS 27.0统计软件进行统计学分析，符合正态分布计量资料以（$\bar{x} \pm s$）表示，组间比较采用两独立样本t检验；计数资料以相对数表示，组间比较采用卡方检验或Fisher's确切概率

法；采用多因素 Logistic 回归分析探究 ESCC 患者淋巴结转移的影响因素，并采用受试者工作特征（ROC）曲线探讨 TB 和 TILs 对 ESCC 患者淋巴结转移的预测价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ESCC 的 TB 数目与分级 切片行 HE 染色后镜下观察在肿瘤浸润前沿的纤维性间质内单个孤立的癌细胞或小癌细胞簇。应用免疫组化 CK5/6 进行染色，CK5/6 在本研究 124 例食管癌中均呈强阳性表达，着色于细胞膜，参考 CK5/6 染色进行 TB 分级，见图 1。



注：A 为食管鳞状细胞癌（ESCC）s 苏木青 – 伊红（HE）染色，低级别肿瘤出芽（TB）；B 为 ESCC 细胞角蛋白（ CK）5/6 染色，低级别 TB；C 为 ESCC HE 染色，高级别 TB；D 为 ESCC CK5/6 染色，高级别 TB。

图 1 ESCC 患者 TB 的 HE 和 CK5/6 染色结果（SP×200）

Figure 1 Haematoxylin-eosin and CK5/6 immunohistochemical staining results of TB in patients with ESCC

2.2 有无淋巴结转移 ESCC 患者临床病理参数的比较 有淋巴结转移者 60 例（48.3%），无淋巴结转移者 64 例（51.6%），不同肿瘤长径、肿瘤分化程度、肿瘤浸润层次、脉管内癌栓、TB 分级、TILs 密度患者的淋巴结转移率比较，差异有统计学意义（$P<0.05$）。将患者分为即低 – 中级别TB+ 高 TILs 者、高级别TB+ 高 TILs 者、低 – 中级别 TB+ 低 TILs 者、高级别 TB+ 低 TILs 者（见图 2），不同 TB 分级 +TILs 密度者淋巴结转移率比较，差异有统计学意义（$P<0.05$）。淋巴结转移与性别、年龄无关，差异无统计学意义（$P>0.05$），见表 1。

表 1 有无淋巴结转移 ESCC 患者临床病理特征的比较〔n（%）〕

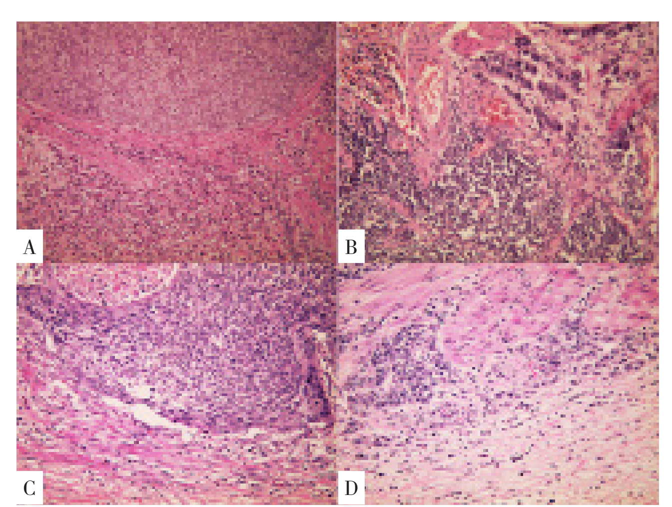
Table 1 Comparison of clinicopathological features between ESCC patients with and without lymph node metastasis

指标	有淋巴结转移者（n=60）	无淋巴结转移者（n=64）	χ^2 值	P 值
性别			0.761	0.383
女	7（11.7）	11（17.2）		
男	53（88.3）	53（82.8）		
年龄（岁）			0.761	0.383
≤ 62	36（60.0）	28（43.8）		
>62	24（40.0）	36（56.2）		
肿瘤长径（cm）			6.604	0.010
≤ 2.5	14（23.3）	29（45.3）		
>2.5	46（76.7）	35（54.7）		
肿瘤分化程度			4.709	0.030
高 – 中	35（58.3）	49（76.6）		
低	25（41.7）	15（23.4）		
肿瘤浸润层次			—	0.001
pT1a	0	7（10.9）		
pT1b	7（11.7）	17（26.6）		
pT2	11（18.3）	16（25.0）		
pT3	42（70.0）	24（37.5）		
脉管内癌栓			37.382	<0.001
有	37（61.7）	6（9.4）		
无	23（38.3）	58（90.6）		
TB 分级			37.904	<0.001
低 – 中级别 TB	19（31.7）	55（85.9）		
高级别 TB	41（68.3）	9（14.1）		
TILs 密度			11.934	0.001
低密度 TILs	42（70.0）	25（39.1）		
高密度 TILs	18（30.0）	39（60.9）		
TB+TILs			44.567	<0.001
低 – 中级别 TB+ 高密度 TILs	8（13.3）	32（50.0）		
高级别 TB+ 高密度 TILs	10（16.7）	7（10.9）		
低 – 中级别 TB+ 低密度 TILs	11（18.3）	23（36.0）		
高级别 TB+ 低密度 TILs	31（51.7）	2（3.1）		

注：—表示使用了 Fishers' 确切概率法；TB= 肿瘤出芽，TILS= 肿瘤浸润淋巴细胞。

2.3 淋巴结转移与 ESCC 患者临床病理特征的多因素 Logistic 回归分析 以是否存在淋巴结转移为因变量（赋值：0= 无；1= 有），以肿瘤长径（赋值：0= 肿瘤长径 ≤ 2.5 cm；1= 肿瘤长径 >2.5 cm）、肿瘤分化程度（赋值：0= 肿瘤高 – 中分化；1= 肿瘤低分化）、肿瘤浸润层次（赋值：0=pT1 期；1=pT2+pT3 期）、TB 分级（赋值：0= 低 – 中级别 TB；1= 高级别 TB）、有无脉管内癌栓（赋值：0= 无，1= 有）及 TILs（赋值：0= 低密度 TILs；1= 高密度 TILs）为自变量，进行多因素 Logistic 回归分析，结果显示：TB（OR=20.078）、脉管内癌栓（OR=28.609）、TILs（OR=0.218）是 ESCC 患者出现淋巴结转移的影响因素（$P<0.05$），见表 2。

2.4 TB 与 TILs 预测 ESCC 患者淋巴结转移的价值 采用 ROC 曲线评估 TB 与 TILs 预测 ESCC 患者淋巴结转移的价值，结果显示，TB 预测 ESCC 患者淋巴结转移



注：A 为低级别TB+高密度肿瘤浸润淋巴细胞（TILs）患者 HE 染色，B 为高级别 TB+ 高密度 TILs 患者 HE 染色，C 为低级别 TB+ 低密度 TILs 患者 HE 染色，D 为高级别 TB+ 低密度 TILs 患者 HE 染色。

图 2　食管鳞状细胞癌（ESCC）患者 TB 和 TILs 的 HE 染色（SP × 200）

Figure 2　Haematoxylin-eosin staining results of TB and TILs in ESCC patients

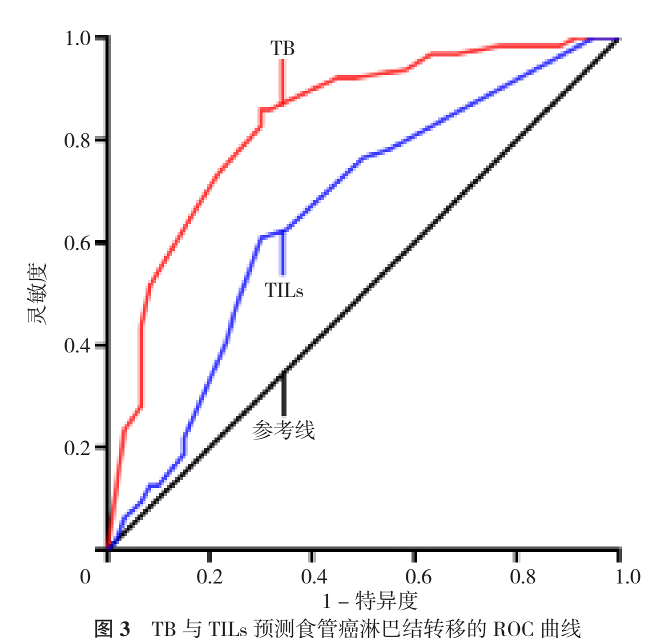


图 3　TB 与 TILs 预测食管癌淋巴结转移的 ROC 曲线

Figure 3　ROC curves of TB and TILs for predicting lymph node metastasis of ESCC

表 2　ESCC 患者出现淋巴结转移的影响因素的多因素 Logistic 回归分析

Table 2　Multivariate Logistic regression analysis of the influencing factors of lymph node metastasis in ESCC patients

指标	*SE*	*β*	*OR* 值	95%*CI*	*P* 值
常量	0.470	–1.565	0.209	—	0.001
TILs	0.570	–1.524	0.218	（0.071，0.666）	0.008
TB	0.613	3.000	20.078	（6.043，66.713）	<0.001
脉管内癌栓	0.682	3.354	28.609	（7.512，108.946）	<0.001

注：—表示无此项数据

的曲线下面积（AUC）为 0.835〔95%*CI*（0.763，0.907），*P*<0.001〕，灵敏度为 70%，特异度为 85.9%；TILs 预测 ESCC 患者淋巴结转移 AUC 为 0.656〔95%*CI*（0.558，0.753），*P*<0.001〕，灵敏度为 70%，特异度为 60.94%。表明 TB 与 TILs 密度预测 ESCC 患者淋巴结转移的诊断效能良好（见图 3）。

3　讨论

TB 最初在结直肠癌中被深入研究。一项纳入 806 例 pT1 期结直肠癌的回顾性多研究中心结果提示，浸润深度 <1 000 μm 的 203 例患者 4 例（2%）有淋巴结转移，低于浸润深度 >1 000 μm 的淋巴结转移率；高级别 TB 病例发生淋巴结转移的比例（25%）高于低级别 TB（7%）（*P*<0.001）；黏膜下浸润深度 ≥ 1 000 μm、高级别 TB 是 pT1 期结直肠癌淋巴结转移的独立危险因素[24]。在进展期结直肠癌，仍有相关研究证实，高级别TB是提示肿瘤淋巴结转移的重要组织学特征[25]。一项纳入 12 项研究包含 1 652 例患者的系统评价表明，高级别 TB 与 pT2 结直肠癌患者更短的 5 年生存率相关（*P*<0.001）[26]。由于 TB 对结直肠癌侵袭转移及预后的重要价值，已将 TB 作为结直肠癌常规病理报告内容。

目前尚未将 TB 作为 ESCC 病理报告的常规内容。本研究结果提示高级别 TB 淋巴结转移率为 68.3%，高于低 – 中级别 TB 淋巴结转移率（31.7%）。FUCHINOUE 等[13]分析了 50 例浅表 ESCC 患者，结果证实TB分级和浅表ESCC的淋巴结转移相关（*P*<0.001），本研究结果与之一致，高级别 TB 病例具有更高的淋巴结转移率。在临床治疗中，对于早期内镜下黏膜剥离术（endoscopic submucosal dissection，ESD）及食管癌根治切除患者，均建议在病理报告中加入 TB 分级。若存在高级别 TB，早期 ESD 切除患者建议仍要采取积极的治疗手段，如追加手术或放化疗。食管癌根治切除患者建议追加术后放化疗或扩大淋巴结清扫范围。尤其对于术后淋巴结清扫数量不足难以准确评估 N 分期的患者，可以将 TB 分级作为是否行术后辅助治疗的参考指标。

在恶性黑色素瘤、结肠癌、乳腺癌、膀胱癌等多个系统恶性肿瘤中均有研究证实 TILs 与预后情况相关[27-30]，在 TILs 与淋巴结转移的研究中，有结果提出 TILs 与早期胃癌的淋巴结转移相关，低密度 TILs 是淋巴结转移的独立预测因素[18]。本研究表明，TILs 与食管癌淋巴结转移具有相关性，并且多因素分析结果显示，TB、TILs 及脉管内癌栓是食管癌淋巴结转移的影响因素。

以往有研究指出，低级别 TB+ 高密度 TILs 与结直肠癌更长的生存期相关[31]。本研究将患者分为低 – 中级别 TB+ 高密度 TILs 者、高级别 TB+ 高密度 TILs 者、低 – 中级别 TB+ 低密度 TILs 者、高级别 TB+ 低密度

TILs 者。结果显示，低-中级别 TB+ 高密度 TILs 组淋巴结转移率较低，高级别 TB+ 低密度 TILs 者淋巴结转移率较高。通过 ROC 曲线进一步得出，TB 分级与 TILs 预测淋巴结转移的诊断效能良好，该结果应用于临床，有助于指导患者的后续治疗，改善预后情况。

本研究存在一定的局限性，纳入病例为单中心回顾性研究且规模有限，由于失访人数较多，未分析 TB 分级与 TILs 对预后的影响，后期研究将进一步完善。

综上所述，TB、TILs 与食管鳞状细胞癌淋巴结转移密切相关，并具有较好的预测价值，对行 ESD 切除的早期食管癌患者以及已接受食管癌根治切除术但淋巴结清扫不足患者的后续治疗方案具有一定临床指导意义。

作者贡献：张继方提出主要研究目标，负责研究的构思与设计，研究的实施，统计学处理，图、表的绘制与展示，撰写论文；唐佳雯进行数据的收集与整理；张继方、陈芳负责病理形态学评估，进行论文的修订；李红亮负责文章的质量控制与审查，对文章整体负责，监督管理。

本文无利益冲突。

参考文献

[1] SUNG H，FERLAY J，SIEGEL R L，et al. Global cancer statistics 2020：GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin，2021，71(3)：209-249. DOI：10.3322/caac.21660.

[2] 毛友生，高树庚，王群，等. 中国食管癌临床流行特征及外科治疗概况大数据分析[J]. 中华肿瘤杂志，2020，42(3)：228-233. DOI：10.3760/cma.j.cn112152-20191112-00729.

[3] HAGENS E R C，VAN BERGE HENEGOUWEN M I，GISBERTZ S S. Distribution of lymph node metastases in esophageal carcinoma patients undergoing upfront surgery：a systematic review[J]. Cancers（Basel），2020，12(6)：1592. DOI：10.3390/cancers12061592.

[4] 周鑫鹏，梅新宇. N1 期胸段食管鳞状细胞癌淋巴结转移规律及预后分析[J]. 中国胸心血管外科临床杂志，2022，29(12)：1587-1593. DOI：10.7507/1007-4848.202111053.

[5] 中国抗癌协会食管癌专业委员会. 食管癌根治术胸部淋巴结清扫中国专家共识(2017 版)[J]. 中华消化外科杂志，2017，16(11)：1087-1090. DOI：10.3760/cma.j.issn.1673-9752.2017.11.001.

[6] WANG Y C，ZHU L Y，XIA W L，et al. Anatomy of lymphatic drainage of the esophagus and lymph node metastasis of thoracic esophageal cancer[J]. Cancer Manag Res，2018，10：6295-6303. DOI：10.2147/CMAR.S182436.

[7] ARNOLD M，ABNET C C，NEALE R E，et al. Global burden of 5 major types of gastrointestinal cancer[J]. Gastroenterology，2020，159(1)：335-349.e15. DOI：10.1053/j.gastro.2020.02.068.

[8] BASILE D，BROUDIN C，EMILE J F，et al. Tumor budding is an independent prognostic factor in stage III colon cancer patients：a post-hoc analysis of the IDEA-France phase III trial（PRODIGE-GERCOR）[J]. Ann Oncol，2022，33(6)：628-637. DOI：10.1016/j.annonc.2022.03.002.

[9] 郭锦全，陈芳，何丽萍. 肿瘤出芽与乳腺癌临床病理特征、肿瘤浸润淋巴细胞及患者预后的相关性探讨[J]. 中国现代医生，2020，58(5)：30-33. DOI：10.13315/j.cnki.cjcep.2019.01.004.

[10] JESINGHAUS M，BRÜHL F，STEIGER K，et al. Cellular dissociation grading based on the parameters tumor budding and cell nest size in pretherapeutic biopsy specimens allows for prognostic patient stratification in esophageal squamous cell carcinoma independent from clinical staging[J]. Am J Surg Pathol，2019，43(5)：618-627. DOI：10.1097/PAS.0000000000001230.

[11] VAN WYK H C，GOING J，HORGAN P，et al. The role of perineural invasion in predicting survival in patients with primary operable colorectal cancer：a systematic review[J]. Crit Rev Oncol Hematol，2017，112：11-20. DOI：10.1016/j.critrevonc.2017.02.005.

[12] 徐程，张响，姬东泽，等. 肿瘤出芽与 pT1 期胃腺癌临床病理特征的相关性分析[J]. 临床与实验病理学杂志，2021，37(4)：384-388. DOI：10.13315/j.cnki.cjcep.2021.04.002.

[13] FUCHINOUE K，NEMOTO T，SHIMADA H，et al. Immunohistochemical analysis of tumor budding as predictor of lymph node metastasis from superficial esophageal squamous cell carcinoma[J]. Esophagus，2020，17(2)：168-174. DOI：10.1007/s10388-019-00698-5.

[14] PAIJENS S T，VLEDDER A，DE BRUYN M，et al. Tumor-infiltrating lymphocytes in the immunotherapy era[J]. Cell Mol Immunol，2021，18(4)：842-859. DOI：10.1038/s41423-020-00565-9.

[15] SUDO T，NISHIDA R，KAWAHARA A，et al. Clinical impact of tumor-infiltrating lymphocytes in esophageal squamous cell carcinoma[J]. Ann Surg Oncol，2017，24(12)：3763-3770. DOI：10.1245/s10434-017-5796-4.

[16] TAKADA K，KASHIWAGI S，GOTO W，et al. Use of the tumor-infiltrating CD8 to FOXP3 lymphocyte ratio in predicting treatment responses to combination therapy with pertuzumab，trastuzumab，and docetaxel for advanced HER2-positive breast cancer[J]. J Transl Med，2018，16(1)：86. DOI：10.1186/s12967-018-1460-4.

[17] CHEN K Y，CHENG G P，ZHANG F R，et al. PD-L1 expression and T cells infiltration in patients with uncommon EGFR-mutant non-small cell lung cancer and the response to immunotherapy[J]. Lung Cancer，2020，142：98-105. DOI：10.1016/j.lungcan.2020.02.010.

[18] KIM J Y，KIM C H，LEE Y，et al. Tumour infiltrating lymphocytes are predictors of lymph node metastasis in early gastric cancers[J]. Pathology，2017，49(6)：589-595. DOI：10.1016/j.pathol.2017.06.003.

[19] CHOUAT E，ZEHANI A，CHELLY I，et al. Tumor budding is a prognostic factor linked to epithelial mesenchymal transition in pancreatic ductal adenocarcinoma. Study report and literature review[J]. Pancreatology，2018，18(1)：79-84. DOI：10.1016/j.pan.2017.11.010.

[20] LUGLI A，KIRSCH R，AJIOKA Y，et al. Recommendations

for reporting tumor budding in colorectal cancer based on the International Tumor Budding Consensus Conference（ITBCC）2016［J］. Mod Pathol，2017，30（9）：1299-1311. DOI：10.1038/modpathol.2017.46.

［21］SALGADO R，DENKERT C，DEMARIA S，et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes（TILs）in breast cancer：recommendations by an International TILs Working Group 2014［J］. Ann Oncol，2015，26（2）：259-271. DOI：10.1093/annonc/mdu450.

［22］SCHALPER K A，BROWN J，CARVAJAL-HAUSDORF D，et al. Objective measurement and clinical significance of TILs in non-small cell lung cancer［J］. J Natl Cancer Inst，2015，107（3）：dju435. DOI：10.1093/jnci/dju435.

［23］ZHANG D，ZHENG Y，WANG Z，et al. Comparison of the 7th and proposed 8th editions of the AJCC/UICC TNM staging system for esophageal squamous cell carcinoma underwent radical surgery［J］. Eur J Surg Oncol，2017，43（10）：1949-1955. DOI：10.1016/j.ejso.2017.06.005.

［24］KAWACHI H，EISHI Y，UENO H，et al. A three-tier classification system based on the depth of submucosal invasion and budding/sprouting can improve the treatment strategy for T1 colorectal cancer：a retrospective multicenter study［J］. Mod Pathol，2015，28（6）：872-879. DOI：10.1038/modpathol.2015.36.

［25］GAO L F，ZHONG Y，LONG T，et al. Tumor bud-derived CCL5 recruits fibroblasts and promotes colorectal cancer progression via CCR5-SLC25A24 signaling［J］. J Exp Clin Cancer Res，2022，41（1）：81. DOI：10.1186/s13046-022-02300-w.

［26］PETRELLI F，PEZZICA E，CABIDDU M，et al. Tumour budding and survival in stage II colorectal cancer：a systematic review and pooled analysis［J］. J Gastrointest Cancer，2015，46（3）：212-218. DOI：10.1007/s12029-015-9716-1.

［27］ABHINAV，JAISWAL，DANNENFELSER R，et al. An activation to memory differentiation trajectory of tumor-infiltrating lymphocytes informs metastatic melanoma outcomes［J］. Cancer Cell，2022，40（5）：524-544.e5. DOI：10.1016/j.ccell.2022.04.005.

［28］ROUANNE M，BETARI R，RADULESCU C，et al. Stromal lymphocyte infiltration is associated with tumour invasion depth but is not prognostic in high-grade T1 bladder cancer［J］. Eur J Cancer，2019，108：111-119. DOI：10.1016/j.ejca.2018.12.010.

［29］BAI Z Y，ZHOU Y，YE Z F，et al. Tumor-infiltrating lymphocytes in colorectal cancer：the fundamental indication and application on immunotherapy［J］. Front Immunol，2022，12：808964. DOI：10.3389/fimmu.2021.808964.

［30］LOI S，MICHIELS S，ADAMS S，et al. The journey of tumor-infiltrating lymphocytes as a biomarker in breast cancer：clinical utility in an era of checkpoint inhibition［J］. Ann Oncol，2021，32（10）：1236-1244. DOI：10.1016/j.annonc.2021.07.007.

［31］LANG-SCHWARZ C，MELCHER B，HAUMAIER F，et al. Budding and tumor-infiltrating lymphocytes - combination of both parameters predicts survival in colorectal cancer and leads to new prognostic subgroups［J］. Hum Pathol，2018，79：160-167. DOI：10.1016/j.humpath.2018.05.010.

（收稿日期：2023-02-21；修回日期：2023-04-08）

（本文编辑：宋春梅）